Pseud. solanacearum の研究

X. 潜伏バイラス T-200 による細菌系統の遺伝性変化について

岡 部 德 夫・後 藤 正 夫

Studies on *Pseud. solanacearum*

X. Genetic Change of the Bacterial Strains induced by the Temperate Phage T-200.

Norio OKABE and Masao GOTŌ

I. 緒　　言

細菌バイラスとその寄主細菌との間には，幾多の複雑微妙なる相互関係が介在する。バイラスは細菌体に吸着侵入すると，細菌に影響を与えてその運命を左右するか，或は逆に，バイラス自身が寄主細菌に影響されてその運命を左右されるかの何れかである。その何れをとるかは，バイラスと細菌との相互関係及び環境条件とによつて支配されている。バイラスに感染した細菌は死滅崩壊の運命をたどるのが，少くとも植病領域では常識となつているが，これ以外に，遺伝的性質に影響をあたえて，病原性，生化学的性質，栄養生理，抗原構造などの変化をもたらす場合が見出されている。例えば FREEMAN (1951)，FREEMAN and MORSE (1952)，BARKSDALE and PAPPENHEIMER (1954)，GROMANr (1955) などは，*Corynebacterium diphtheriae* について，毒性と phage との関係を究明し，特定の temperate phage によつて溶原性化すると，無毒型の菌が toxin 産生能を有する毒力型に変ることを明らかにしている。又 *Salmonella typhosa* には分離後間もない菌に，病原性に関係があると考えられた Vi antigen なる特異な抗原の存在が知されている。CRAIGIE and YEN (1938) はこの抗原を持つたチブス菌にのみ作用する Vi phages を見出し，BARON et al. (1953) はxylose 分解能を有しないチブス菌の系統を，分解能を有する菌で増殖せしめた Vi phages E_1 及び K で処理すると，分解能型へ変ることを見出している。このような糖分解能の phage による変化は，arabinose 及び rhamnose についても，BARON et al. (1955) によつて証されている。同氏らは又 purine 合成能を有しない非病原性系統を，合成能を有する病原性系統で増殖せしめた Vi phage II によつて，病原性系統へと改変せしめ得ている。ISEKI and SAKAI (1954) は *Salmonella newington* の lysogenic strain より得た phage で，*Salmonella* E group の生化学的性質が変ることを報告し，UETAKE, NISHIMURA and UCHIDA (1955) は上記 group の *Salmonella* について，phage によつて抗原構造が変ることを記している。

以上は，従来細菌バイラスについて[illegible]とは可なり違つたもので，バイラスが[illegible]伝に対しても，重要なる役割を[illegible]かにしたものである。従つてバイラスは，[illegible]統の相互関係を探る道具としても，[illegible]置を占めるものと思われ，[illegible]云わざるを得ない。

Pseud. solanacearum には，[illegible]とを特徴とした，[illegible]原化した場合，如何なる性状の[illegible]ラスの細菌遺伝に対する影響を知る上にも，[illegible]題である。T-200 菌株はバイラスを[illegible]且つそのバイラスは[illegible]する点で，他の lysogenic strains とは[illegible]在である。T-200 バイラスに[illegible]工的に溶原化すると，その細菌が T-200 菌株と全く同じ性状の所有者に改変せられる。[illegible]菌の系統的特徴を支配する一条件であるのみならず，[illegible]の細菌の性格までを変える作用があることを[illegible]ものとして注目せられる。この報告は，T-200 バイラスとその寄主細菌との関係を記したもので，他の temperate phages については，[illegible]定である。

II. 実験材料及び方法

実験材料　T-200 菌株は，[illegible]トマトより分離培養されたもので，*Pseud. solanacearum* の系統鑑別用培地 lactose-mannit agar 上では，[illegible]点，酸及びガスを生じない[illegible]である。[illegible] lysogenic strain であるので，[illegible]る菌株を detector strain として調べると，[illegible]

集落形質より見れば，明らかにF型への帰還を思わせる。しかし菌そのものは，F型菌と全く違つたものであるので，帰還であるとは云い得ない。又F抗原合成能を有しないOp型菌は，合成能を有するものへと還ることもない。故に何れも安定であつて，F→Op 変異はF型よりF及びOpの2種の表現型Op菌を一方的に生ずる変異とも云い得る。

V. 摘　　要

1. *Pseud. solanacearum* のOp型菌には，蔗糖含有培地上に生育せしめた場合，F型菌類似の発育様式を示すものとそうでないものとの2種がある。

2. F型類似の発育様式を示すOp型菌は，蔗糖以外に，dextrose, galactose, laevulose, glycerine などの存在に於ても同様なる生育を示す。しかし肉汁寒天上ではOp型固有の集落を形成するのみである。

3. Op型菌はF型集落を形成すると，菌体染色性及び血清反応にも変化が起る。即ち染色性は均一染色性より両極又は不規則染色性へと変り，血清反応はF型特異性血清に対する凝集性を獲得する。これはOp型菌に，炭素化合物の存在に於て，F抗原合成能を持つたものがあるためで，その能力は菌株によつて違いがある。

4. 菌体に存在するF抗原は染色性及び血清反応によつて捕えてみると，菌体の非染色部にあると考えられる。即ち中央部又は二三の局部に位置し，Op抗原の表層を占めていると推定される。菌の age によつて増減，消滅するようである。

5. F抗原合成能を有するOp型菌は，接種によつて病原性を調べてみると，F抗原合成能を有しないOp型菌と全く同様で，病原性はF抗原合成能の有無強弱には関係がない。Op型菌の内には，F型と同様なる病原性を有するものも見出された。

参 考 文 献

1952. 川宮田愛郎訳　細菌細胞　岩波書店

1954. 岡部徳夫，佐藤正夫　静大農研究報告 4:41～60.

1955. 及川　淳　免疫化学実験法　中山書店

Résumé

1. From the cultural studies on sucrose agar the presence of another form of Op-type organism was detected. This organism is characterized, in the presence of sucrose, by the formation of a whitish fluidal growth analogous to that of the F-type one, but in the absence of sucrose it loses the ability to produce a fluidal growth and shows normal opalescent colonies only. It was evident that the presence of sucrose in media exerts a marked influence upon the colonial features of such Op-type organisms.

2. In addition to sucrose such a fluidal growth was also observed in company with the presence of dextrose, galactose, laevulose, and glycerine. In any strains tested 2 kinds of the Op-type organisms, one having the ability to form a fluidal growth and the other lacking, were demonstrated.

3. Alternation of growth form thus induced by the presence of sucrose or other carbon sources is associated with the changes in staining property and serological reaction of the somatic cells. when preparation are made from the fluidal Op colonies and stained their cells with carbol fuchsin change of the staining property from uniform to bipolar or irregular is noticeable under microscopic examinations. Fluidal Op cells come to show positive agglutinations against a F-type specific antiserum in contrast to the negative reaction shown by the non-fluidal Op ones. From this finding it was evident that the change is a reactive phenomenon coming from the presence of F antigens produced on the cell surface of the fluidal Op-type organisms. Synthetic ability of the F antigen was found to be different according to the kinds of strains.

4. When daily examinatoins were made by means of the staining and serological tests, the site of the F antigen present on the cell surface is believed to be in the stainless parts at centre or a few parts of the soma and changes due to the production or reduction of the F antigen are detected by the age of colonies. In cells of young growing colonies synthetic activity of the F antigen is progressive but in cell of fully grown colonies it becomes regressive and consumptive until the whole of F antigenic substance is consumed and finally disappears.

5. When fluidal Op-type organisms that can produce the F antigen were compared with normal Op-type ones that lack this power by inoculation experiments no difference of the virulences is demonstrated between them. Usually the F-type organisms are more virulent than the Op-type ones but in some isolates of the latter the presence of highly virulent organisms are demonstrated in the present studies. The result shows evidence that the virulence of *Pseud. solanacearum* is not correlative to a synthetic activity of the F-type specific antigenic substance.

めた被溶原化菌株の plaque，又は T-c200 バイラスと共に培地に流し込んで得られた被溶原化菌株の colony より，lysogenic strains を得る方法などがあるが，何れも比較的容易に採取された。

被溶原化菌株が溶原化されたか否かは，バイラス放出性と変つたか否かを調べる以外に，T-c200 バイラスに対して免疫性であるや否や，又 carrier strain であるか否かも検査の対象とした。carrier strain である場合には，その菌の培養のみを流し込んだだけで，随伴バイラスによる plaques の形成が認められる。故にこれらは除外して，lysogenic strains としての条件に合致したもののみ培養保存した。溶原化された菌は，何れも，その後の継代培養によつて，溶原性に変化を生ずることがない。その progeny は何れも lysogenic clones を生ずることが判つた。

2．人工的に溶原化された菌株の特徴 T-c200 バイラスによる溶原化用菌株は，何れも所謂 Acid group に属するもので，virulent viruses S1, S1′, S2, S2′, S3, S5, S6 などに対して特異な反応を示す lysotypes である。これらは溶原化すると，上記のバイラスに対する固有性に変化を生ずるや否やは，temperate phage と host bacteria との相互関係を知る上に，興味ある問題である。又 T-c200 菌株は非溶原化した場合，如何なる性状となるかも，その母型との関係を知る上に，関心事である。故にこれらの関係を明らかにする目的で，人工的に溶原化した菌株の lysotype を調べたところ，次の如き結果が得られた。

以上はF型及びOp型共に同様の結果が得られた。これを見ると，何れの lysotypes も T-c200 バイラスによつて溶原化されると，バイラス放出の母体である T-c200 と全く同一なる lysotype となつている。そこで，これらの菌株が T-c200 と全く同じものであるか否かを知る目的で，この菌株の特徴である鑑別培地上の発育様相をも調べてみた。その結果は矢張り T-c200 菌株と同様で，発育は極めて不良で，酸，ガスの何れをも生じないことが判つた。即ち T-c200 バイラスに感染して lysogenic strain となつたものは，何れも T-c200 と同じ菌株に変ることが確認せられた。これは E-3, A-8, E-c79 の如き antagonistic strains を溶原化した場合も同様で，これらの菌株は lysogenic strains となると，他系統に対する拮抗性も全く失われる。故に T-c200 バイラスによる溶原化菌の探索には，lactose-mannit agar を用いて，発育不良化菌を調べればよいことが判つた。T-c200 の non-lysogenic strain は virulent phages に対する関係より見ると，B.-21 に類似している。恐らくこれと同じものか或は近縁なるものが溶原化されて生じたものが，著者らの T-c200 菌株であらうと考えられる。しかし乍ら，T-c200 菌株は母型が多数あるので，non-lysogenic strain には，種々なるものが存在する可能性が強い。

3. Lysogenic strains の病原性 T-c200 菌株はトマト，ナスに病原性を有し，タバコ，ゴマには病原性を有しない。タバコ，ゴマを侵害する菌株 S-IX, A-8, S-II, T-c171, S-c3, E-c81, B-c54 を T-c200 バイラスで溶原化した場合，病原性にも変化が及ぶか否かは，又別な面から興味を呼ぶ問題である。故にこれらの lysogenic strains について，母型の non-lysogenic strains と比較する目的で，タバコ及びゴマに接種を行つてみた。供試植物及び接種方法は既報 (1953) の通りである。この結果は，何れの菌株も溶原化されると，T-c200 菌株と全く同様な病原性と変

Table 1. Comparison of the lysotypes between the non-lysogenic strains and their artificially lysogenized strains.

Strain \ Virus / Strain	Non-lysogenic strain						Lysogenic strain					
	S1	S2	S3	S5	S6	T-c200	S1	S2	S3	S5	S6	T-c200
S-IX	−	+++	+++	+++	+++	+++	−	−	−	±	++	−
A-8	−	+	±	−	+++	++	−	−	−	±	++	−
E-c79	−	++	+	−	+++	++	−	−	−	±	++	−
S-II	−	±	+++	−	+++	++	−	−	−	±	++	−
E-3	−	−	−	−	+++	+	−	−	−	±	++	−
T-c171	−	−	−	+++	−	++	−	−	−	±	++	−
T-36	−	−	−	++	−	+	−	−	−	±	++	−
S-c3	−	−	−	+++	+++	++	−	−	−	±	++	−
E-c81	−	−	−	−	+++	+	−	−	−	±	++	−
B-c54	−	−	−	−	+++	++	−	−	−	±	++	−
A-c6	−	−	−	−	−	+	−	−	−	±	++	−
Bc-21	−	−	−	−	−	++	−	−	−	±	++	−
T-c200	−	−	−	−	−	++	−	−	−	±	++	−
S-9	+	−	−	+++	−	++	−	−	−	±	++	−

し得られる。F型及びOp型の2種を使用した。

T-c200 バイラスに感受性なる菌株で，人工的溶原化を行つたものは，lysogenic strains としては S-9, A-8, non-lysogenic strains としては S-IX, S-II, S-c 3, T-c 171, T-36, E-3, E-c 79, E-c 81, B-6, B-19, B-c 54, B-c 21, A-c 6 などである。前者の内，A-8 菌株，後者の内 E-3, E-c 81, E-c 79 菌は antagonistic strains である。これらは主としてF型を使用したが，必要に応じて Op 型をも供試した。Double lysogenic strain を得る目的には，detector strain として B-6 菌株を使用した。これらの菌株は，既に報告した如く，各種の virulent phages に対してそれぞれ特異な反応を示すので，容易に識別し得られる。なを，この実験に用いた T-c200 菌株の non-lysogenic strain は，名古屋大学農学部松井助教授の御厚意によつて T-c200 菌株を紫外線照射で非溶原化したものである。同氏に対しては厚く御礼申上げる。

方法 培養液は potato solution, sucrose solution の両者を使用し，後者は増菌用として K_2HPO_4 及び NH_4NO_3 の 0.1% 溶液に，sucrose を 0.5% 加えたものである。plaque 形成用としては potato agar を使用した。

T-c200 バイラスは，T-c200 菌株の sucrose solution cultures を生菌のまゝ，又は加熱滅菌したものを使用し，他の系統菌の溶原化には，sucrose solution 及び potato solution を用いて次の如き方法で行つた。

1) T-c200 菌株と被溶原化菌株とを同時に同一試験管に移植培養する方法

2) T-c200 菌株加熱培養に被溶原化菌株を加えて培養する方法

3) T-c200 バイラスを被溶原化菌株の培養と共に寒天培地に流し込み，生じた plaque 又は colonies を subculture して得る方法

溶原化された細菌検索のためには，indicator strain として S-IX 菌株を使用し，放出バイラスの有無を調べた。即ち S-IX 菌株を多量に加えて流し込んだ寒天培地表面に，検査用細菌集落を移植培養して，集落の周囲に plaque が形成されるか否かを調べる方法をとつた。但し antagonistic strains E-3, E-c 79, A-8 の溶原化に当つては，indicator strain としてそれぞれ E-3, E-c 79, A-8 菌株を用いた。又溶原化処理を行つた菌株は，lactose mannit agar slant に培養して発育を調べる方法をもとつた。

III. 実験結果

1. 溶原化（Lysogenization） といで言う溶菌化とは，lysogenic strain より放出されるバイラスを用いて，non-lysogenic strains を人工的にバイラス放出性菌へと変えることを指す。種々なる方法を以つて行つた結果何れも溶原化が比較的容易であることを認められた。前記の方法 1) では，colony tpye の相違を利用して溶原化を行うのが，最も便利で且つ能率的であつた。即ち T-c200 菌株はF型及び Op 型共に lysogenic であるので，被溶原化菌株をF型とした場合は，T-c200 Op 菌株を，又被溶原化菌株を Op 型とした場合は，T-c200 F 菌株を同時に培養すると，目的とする菌株を集落の特徴によつて容易に識別でき，放出バイラスによる感染，溶原化を捕え得る。溶原菌株と被溶原菌株とを同時に同一試験管内に培養し，34°C で 24 時間保温した後，肉汁寒天で流し込み培養を行い，出現した集落について，被溶原化菌株の溶原化有無を検すればよい。又 T-c200 菌株の 24 時間培養に，被溶原化菌株の若い培養を 1 白金耳加え，24 時間後に流し込んで弧立集落を検査する方法をも採つた。F型菌よりは Op 型菌を生じ易いので，溶原化に当つては，T-c200 F 菌株を用いると，これより生じた Op 型菌と，被溶原化菌株の Op 型とを，混同する危険が多分にある。故に主として T-c200 Op 菌株を，バイラス供給源として使用し，Op 型の lysogenic strains を得る目的には lysogenic F strains より生じたものを利用した。この方法によると，供試菌の系統によつて多少の違いはあるが，弧立集落それぞれ 30 個の内，約半数以上のものは溶原化されることが判つた。T-c200 Op の 24 時間培養に，被溶原化菌株を加えて溶原化した場合は，同時培養より遙かに高い溶原化率を得られ，しばしば 100% の場合もあつた。

T-c200 菌株の培養中には，T-c200 菌と T-c200 バイラスとが共存する。培養は 52°C で 10 分間加熱すると，菌は完全に死滅するが，バイラスは少数のものが不活性化されないで残つている。故に加熱した培養に，被溶原化菌株を加えて培養すれば，菌の一部はバイラスに侵されて死滅崩壊し，バイラス濃度が高まり，他の一部は溶原化されて増殖することになる。流し込みによつて得られた弧立集落を探索すれば，lysogenic strain は採取される筈である，第 2) 法はこれを狙いとしたものであるが，系統によつて溶原化されるものとされないものとがあつた。前者には S-IX F, S-c 3 F 後者には S-II F, T-36 F, S-9 F などが属していた。

第 3) 法は，T-c200 Op の potato solution culture 24 時間のもの 1 cc. に，被溶原化菌株 F 型の sucrose solution culture 0.1 cc を加え，10 分間放置したものを，直ちに肉汁寒天で流し込んで，弧立集落を形成せしめて溶原化菌を得る方法，T-c200 バイラスで形成せし

か或は偶然に組合つた特異な desoxyribonucleic acid が関連あるものと考えられている。従つて group A streptococci より得た酵素或は desoxyribonuclease で, Omega phage の浮液を処理すると, motile strain の誘導性は失われるとのことである。

以上の如く, バイラスによる細菌性状の遺伝的変化は, 二つの場合があるが, temperate phage が重要なる役割を演じていることは明らかである。著者らの T-$_c$200 バイラスは, バイラス自体に寄主細菌の遺伝性を支配する因子が結合していて, 被溶原化細菌の対応因子と置換することが, 溶原化に伴う系統特性の変化の原因であると思われる。これは T-$_c$200 バイラスによつて溶原化された菌株の総てが示す特徴であるので, バイラス粒子と細菌の遺伝因子との結合は可なり固いものと思われる。

T-$_c$200 菌株は lactose−, mannit− を特徴としたものである。この放出バイラスによる被溶原化菌株は lactose+, mannit+ ; lactose+, mannit− ; lactose−, mannit+ を特徴とした系統の何れもが lactose−, mannit− へと変る。故にこのバイラス粒子には, lactose 及び mannit の非分解性を支配する因子が存在すると考えられるが, T-$_c$200 菌株よりは lactose−, mannit+ の lysogenic mannit variant を生ずる場合があるので, lactose 非分解性因子は固定されているに対し, mannit 非分解性因子はそうでないように思われる。

溶原化に伴つて, lysotype を異にした総ての系統が, バイラス放出の T-$_c$200 菌株と, 全く同じ lysotype に変ることは, 矢張り T-$_c$200 バイラスに, virulent viruses に対する感染, 抵抗を支配する遺伝因子が存在し, 細菌体に存在する対応の因子と置換される結果ではなかろうかと推定される。

Pseud. solanacearum に Vi antigen があるや否や, 又 Vi antigen を有する菌体にのみ作用するバイラスがあるや否やは, 将来の興味ある課題であるが, T-$_c$200 バイラスによつて lysogenic strains となつたものは, 総て系統としての特徴である病原性にまで変化が及んでいる。即ちタバコ, ゴマに対する寄生性が全く失われている。Lactose 非分解菌は何れの系統もタバコ, ゴマに非病原性であるので, 溶原化に伴つて生じた lactose 分解能の喪失が, この変化に関係あるとも考えられる。しかし乍ら, lactose 分解菌, 必ずしも前記の植物に対する病原性の所有者であるとは限らないので, 分解能と病原性との間には, 相関性があるとは云い得ない。寄主植物に対する系統の特異性は, いくつかの遺伝因子によつて支配されているものと思われる。トマト, ナス, タバコ及びゴマに対する寄生性は, 夫々別な因子が関与していると推定されるが, 溶原化に伴つてタバコ, ゴマに対する寄生性を失われることは, 矢張りバイラス粒子に, これらの因子を変化せしめるものがあることを物語つている。T-$_c$200 バイラスによる溶原化は, in vitro では極めて容易である。in vivo でも可能であるか否かは興味ある問題である。バイラスを吸収せしめた植物体内に於ける溶原化及び病原性えの影響は, 次の段階として究明の予定である。

V. 摘　　要

トマトより分離した T-$_c$200 菌株は lysogenic strain である。この菌株よりの放出バイラス T-$_c$200 は, 感受性系統の菌体に吸着せしめ, 人工的にこれらを lysogenic strains とならしめると, どの系統菌も系統としての特徴が失われて, T-$_c$200 菌株と全く同様なる性状に変る。これは virulent viruses に対する lysotype, lactose 及び mannit に対する biotype, タバコ及びゴマに対する寄生性に於て認められる変化である。バイラス粒子には, 以上のような性状を支配する遺伝因子が結合していて, 寄主細菌の溶原化に際し, これを導入することが, かかる遺伝性変化を招来する原因であろうと考えられた。Temperate phage には寄主細菌の死滅崩解以外に, 遺伝的性状の変化をも齎らす役割があることを明らかにされた。

参 考 文 献

1938. Craigie, J., and Yen, C. H.: The demonstration of types of *B. typhosus* by means of preparation of type II Vi phage 1 (Principles and technique 2). The stability and epidemiological significance of Vi form types of B. typhosus. Can. Public Health J., 29 ; 448~463 ; 484~496.

1951. Freeman, V. J.: Studies on virulence of bacteriophage-infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*. J. Bact. 61 ; 675~688.

1951. Lederberg, J., Lederberg, E. M., Zinder, N. D. and Lively, E. R.: Recombination analysis of bacterial heredity. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 16 ; 413.

1952. Freeman, V. J., and Morse, I. U.: Further observations on the change to virulence of bacteriophage-infected avirulent strains of *Corynebacterium diphtheriae*. J. Bact. 63 ; 407~414.

1952. Zinder, N. D., and Lederberg, J.: Genetic exchange in *Salmonella* J. Bact. 64 ; 679.

1953. Lwoff, A.: Lysogeny. Bacteriol. Rev. 17 ; 269~337.

1953. Baron, N. L., Formal, S. B., and Spilman, W.: Use of Vi phage lysates in genetic transfer. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 83 ; 292~295.

1953. 岡部徳夫, 後藤正夫, : *Pseud. solanacearum* の研究 I. 細菌バイラスによる系統の分類と系統の毒性に

り，タバコ，ゴマに対する寄生性を喪失する。これはタバコより分離した病原性の強力なる菌株を，直ちに溶原化して接種した場合でも同様で，T-₆200 バイラスによる溶原化は，病原性まで T-₆200 菌株と同様なものへと改変せられることが判明した。なをトマトに lysogenic strains を接種して，一定の期間（10日）毎に再分離を行い，病患部組織内に於ける細菌の溶原性を調べた結果では，lysogenic strain よりは lysogenic clones を生じ，non-lysogenic clones の存在は証し得なかつた。

4. Double lysogenic strain S-9 菌株は lysogenic strain であるので，これを T-₆200 バイラスで更に溶原化すると，2種のバイラスを放出する double lysogenic strain が得られる筈である。辻田，松井（1955）はこれを造ることに成功し，これらのバイラスについての遺伝学に巧明を与えている。しかし乍ら，この場合，S-9 バイラスを捕えるに適当な indicator strain は未だ存在しないので，S-9 菌株が double lysogenic strain であるか否かを検る方法に疑義がある。故にこれを確認する目的で，S-IX 菌株を double lysogenic strain とする方法を採つて追試してみた。

S-9 バイラスは S-IX 菌株によつて増殖せしめると，寄主細菌の影響を受けて，S-9 バイラスとは多少性質が違つた variant virus となり，B-6 菌株を溶菌せしめるものとなる。これは岡部（1954）が報告した通りである。故に T-₆200 バイラスに溶菌せず，S-9 の変異バイラスに感受性なる B-6 菌株は，indicator strain として適当なものである。T-₆200 バイラス検定用菌株には S-9，A-8，S-II などがあり，これらは S-9 バイラスに溶菌されず，T-₆200 バイラスには溶菌されるものである。そこで先ず，S-9 Op の potato culture に S-IX 菌株を移植するか，或は S-9 Op の加熱滅菌培養に，S-IX 菌株を加えて溶原化を行い，lysogenic strain S-IX（S-9）を得，これを更に同様なる方法で，T-₆200 バイラスによつて溶原化した。その結果によると，得たる lysogenic strain は double であることを確認し得たが，24～48 時間培養について放出バイラスを調べたところ，T-₆200 バイラスの放出量は，T-₆200 菌株と殆んど変らないが，S-9 バイラスのそれは極めて少数で，1 ml. 当り約 200 代であつた。S-IX（S-9）は B-6 菌株で放出量を見ると，可なり高いが，S-IX（S-9，T-₆200）となると，T-₆200 バイラスの影響を受けて著しく減少するのが見られる。この double lysogenic strain は，T-₆200 と全く同じ lysotype 及び biotype を示すものであつた。

5. 非溶菌性菌株の溶原化 Temperate phage を細菌と混合すると，その細菌は感染するか，或は全く感染しない。前者の場合には，死滅するか生存するかの何れかで，死滅する場合はバイラスを放出するか，或は全く放出しないで所謂 abortive infection に終る。又生存する場合は，lysogenic clone を生ずるか，或は non-lysogenic clone を生じ，前者よりはバイラスの放出が見られるが，後者よりは放出されず abortive infection に終る。B-6 及び B-19 菌株は T-₆200 バイラスによつて溶菌されず，abortive infection を示すものと思われるが，これらを T-₆200 バイラスで処理すると，時に lysogenic clone を生ずることがある。即ち，B-6 F 或は B-19 F 菌に T-₆200 Op 菌を加えて培養し，24 時間後に流し込みによつて孤立集落を形成せしめ，得たる F 型集落を mannit agar で調べて見ると，1 割内外のものが T-₆200 F と全く同じ性状のものとなつている。この場合，T-₆200 Op より T-₆200 F を生ずることは全くないので，B-6 F 或は B-19 F の F 抗原が，T-₆200 Op に附加されて，T-₆200 F を生じたかの如き結果となつている。B-6 Op 或は B-19 Op 菌を T-₆200 F と共に培養した場合は，Op 型の lysogenic strains を得る場合こそあるが，F 型の non-lysogenic strains は得られない。故にこの場合も，T-₆200 バイラスによる溶原化が原因であると考えられる。この lysogenic strains は mannit agar 上で娘集落を生じ易い。3～4 日目に出現している。これは T-₆200 菌と違つた点であるが，娘集落菌の性質は T-₆200 mannit variant と全く同様であることが判つた。

IV. 考　　察

Salmonella に属する或る系統菌は，無菌の培養沪液で処理すると，その遺伝的性質が他の系統菌の性質へと変ることを LEDERBERG，LEDERBERG，ZINDER and LIVELY（1951），ZINDER and LEDERBERG（1952）によつて明らかにされた。これは細菌バイラスで溶菌せしめた培養沪液中に，被溶菌細胞の性質を，沪液で処理した細菌細胞へと運ぶ物質が含まれているためと考えられた。この物質の運搬者は，細菌の遺伝因子と結合性のある temperate phages で，これは増殖の際，寄主細菌の遺伝因子と合体したバイラス粒子を生ずる場合があり，感受性の他の系統菌に吸着されてこれを溶原化せしめた場合は，その菌の対応する遺伝因子と置換して，新形質を導入すると推定されている。しかるに BROWN et al.（1955）によると，*Bac. anthracis* では，lysogenic strain より得た Omega phage を，non-motile strain 又は *Bac. cereus* の motile strain で増殖せしめ，non-motile strain に作用せしめると，motile strain の出現を誘導せしめ得る。この要因はバイラス粒子によつて運ばれる

日本に於ける植物細菌病

I. 細菌病及びその病菌の種類について

岡 部 徳 夫・後 藤 正 夫

Bacterial Plant Diseases in Japan.

I. A list of bacterial diseases and their pathogens.

Norio OKABE and Masao GOTŌ

I. 緒 言

我国に存在する植物の細菌性病害については，今までに多くの学者によつて研究報告せられたものがある。その数は病菌の種類だけについて見ても，可なりの数に達する。古い時代に於ける状況はよく判らないが，日野(1949)[1]によると，フジの癌腫病と思われるものが，弘安6年(1283)年に完稿した沙石集に記されているとのことである。しかし乍ら，病植物より細菌を分離培養し，植物に対する寄生性を確認し得たのは，明治年代の後期に入つてからで，これを最初に行つた人は堀正太郎氏である。氏は明治29年(1896)[2]に，当時被害の甚しかつたワサビ腐敗病を研究し，これが細菌病であることを確め，官報3758号に載せている。又同年，大森順造氏[3]もこの病害を研究して，病原が一種の細菌であることを認め，病菌には Bacillus alliariae Omori なる学名を与えている。これは我国で命名された植物の病原細菌としては最初のものである。故に我国に於ける植物細菌病の研究は，先ずワサビの腐敗病から第一に手がつけられたわけである。その後，細菌病として研究され，本邦の学者によつて病原を命名されたものには，明治時代だけでも Bacillus nicotianae Uyeda (1904)[4], Bacillus nelunbi Uyeda (1907)[5], Bacillus araliavorus Uyeda (1909)[6], Pseudomonas zingiberi Uyeda (1909)[7], Bacillus harai Hori and Miyake (1911)[8], Bacillus dahliae Hori and Bokura (1911)[9], Bacillus cypripedii Hori (1912)[10]などがある。又この時期には，被害が著しい点で，注目せられ，研究の対照となつたものに，イネ白葉枯病，ミカン潰瘍病，根頭癌腫病，コンニャク腐敗病，コウリヤナギ黒枯病，桑萎縮性細菌病などがある。大正，昭和の年代に入つてからは，更に多数の細菌病があることを明らかにせられ，その数は約70種に達するに至つている。

以上の細菌の内には，研究の進歩によつて再検討を加えられ，今日，植物の病原ではないことが明らかとなつたもの，他の細菌の異名であることが判つたものなども含まれている。又我国独特のもので，未だ他の国では知られてないもの，外国にも広く分布しているもの，記載が不十分で所属が明らかでないもの，細菌病であるか否か疑しいもの，細菌病ではあるが，その病原に疑問があるものなど，種々である。故にこれらについては十分に研究を行い，訂正すべきものは訂正を加え，我国には如何なる種類の植物細菌病が存在するかを，明らかにしておく必要があると思う。勿論今後の研究によつて，未だ知られてない病害も増加するであろうが，これらについては，十分に慎重を期し，既報のものと比較対照して，誤りを招かないよう留意する必要がある。この研究の目的は，必ずしも既往に於ける研究結果の整理統合ではない。追試又は再検討を加えることによつて，本邦産植物細菌病及びその病菌に，如何なるものがあるかを確認すると同時に，未だ知られてない他のものについても，探索を加えんとするにある。第1報は過去に於て報告された細菌病及びその病原を調べ，多少の私見を加えたものである。

II. 病原細菌分類の方法について

従来我国で採用されている分類方法は，E. F. SMITH[11]の方式を主としたものである。これは言うまでもなく細菌の形態，特に鞭毛の有無配列を重視したもので，分類方法としては極めて簡明で，便利なものである。しかし植物の病原細菌はすべて桿状細菌科に所属すると言う考えから出発した，形態を主とした分類方法は，色々な面で問題があり，学問の進歩と共に不合理であることが次第に判明してきた。これは言わば人為的分類方法で，医学の影響を相当受けておることは見のがせないと思われる。従つて細菌の形態以外に，生理的性質，殊に寄生性を最も重要なる分類の主眼とした方式が，BERGEY 一派によつて提案されるに至つた。この初期のものは(1923)[12]，寄生性を重視したとは言え植物の病原細菌をすべて桿状

[illegible]

[illegible]

tivity to the virulent and temperate phages were used for lysogenization as receptors.

F type bacteria of non-lysogenic strains were separately cultivated in potato or sucrose solutions together with the Op type bacteria of T-c200 isolate or mixed with a lysate of T-c200 phage and incubated at 34°C for 24 hours. Each culture was separately plated on nutrient agar, and the colonies showing F-type growth were examined their lysogenicities and immunities by means of culturing on agar plates seeded with an indicator strain S-IX or a lysogenic strain T-c200. Whatever the strain may be, some of the surviving clones was found to be lysogenic and the phage liberated from the T-c200 isolate was found to be capable of inducing changes of the bacterial characters of the receptor strains. Any of the strains lysogenized by the phage T-c200 results in changes of its characters quite identical to those of the T-200 isolate from which the infecting phage was obtained. Changes induced in the bacterial responses to various phages are summarized in Table 1. When the character mannit + or lactose + is used as a receptor, all lysogenics result in the change of characters to mannit− or lactose− of the lysogenic parents. Virulent strains for tobacco and sesame are induced into avirulent ones.

Bacteria which had thus acquired new characters by transduction transmitted them to all their progeny through an unlimited number of generations, so far as tested. The phenomenon is believed to result from the transference of genetic factors from the donor strain to cells of the receptor strain. It appears that in transduction some of the genetic material of a donor cell is incorporated into some of the phage particles which cause its lysis, and that such genetic material is carried by a phage particle into a receptor cell, where it replace homologous genetic material.

A double lysogenic strain S-IX (S-9, T-c200) is also obtained when the isolate S-IX, a non-lysogenic strain, was lysogenized by the phages S-9 and T-c200. It has the same characteristics as T-c200 excepting the liberation of two kinds of phages.